

## ОСОБЕННОСТИ ВЫДЕЛЕНИЯ АДЕНОВИРУСОВ

*Хныков А.М., Семенов В.М., Самойлович Е.О.,*

*Евдокимов Д.В., Полозкова М.С.*

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов  
медицинский университет»,*

*ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии»*

**Введение.** Аденовирусы представляют собой обширное семейство вирусов (Adenoviridae), патогенных для человека, млекопитающих и птиц. Аденовирусы человека циркулируют повсеместно, по своей распространенности они занимают третье место после гриппа и респираторно-синцитиальной инфекции. Их удельный вес в структуре ОРВИ составляет около 9% [1]. В отличие от эпидемий гриппа, имеющих выраженную сезонность, аденовирусные инфекции регистрируются на протяжении всего года с наибольшим поражением детских групп населения [2].

Успешная выявляемость аденовирусов зависит от ранней диагностики инфекции с ее дифференциацией от других вирусных заболеваний со сходными симптомами. Поэтому очень важно применять строго специфичные и высоко чувствительные методы дифференциальной лабораторной диагностики. Разработка современных диагностических подходов осуществляется по двум основным направлениям: первое из которых связано с совершенствованием иммунологических тестов детекции вирусных антигенов или антител, а другое - с выявлением специфических последовательностей вирусного генома в материалах от больных. Вирусологические методы диагностики предусматривают выделение аденовирусов в культуре Нер-2 клеток из содержимого носоглоточного секрета, мокроты, фекалий, отделяемого с конъюнктивы.

Целью данной работы явилось выделить аденовирусы из носоглоточных смывов путем пассажа на культуру Нер2-с клеток с последующее идентификацией ДНК аденовирусов путем ПЦР.

**Материалы и методы.** С целью выделения аденовирусов обследовались больные со следующей симптоматикой: наличие фаринготонзиллита, гастроэнтерита, энцефалополирадикулоневрита на фоне выраженного общинтоксикационного синдрома. Было обследовано 46 больных.

Носоглоточные смывы, мазки, посев фекалий на энтеровирусы забирались в первые 3 дня поступления в стационар. В лабораторных условиях вирусологического отдела ЦГиЭ г.Витебска обработанный материал путем центрифугирования объемом 0,2 мл экстракта вносили в пробирки с монослоем Нер-2 клеток в наклонном положении 5° с помещением в термостат при 36°C. Монослой проверяли ежедневно на признаки дегенерации (от +1 до +4) в течение 7-10 дней. Все изоляты с ЦПД до 75% монослоя сохраняли при температуре -20°C для дальнейшего исследования. ПЦР-диагностику полученных изолятов проводили в лабораторных условиях БелНИИ эпидемиологии и микробиологии.

**Результаты и обсуждение.** Аденовирусы удалось выделить у 6 пациентов с различными клиническими формами аденовирусной инфекции (табл.). С целью идентификации аденовирусов была проведена ПЦР. ПЦР состояла в среднем из 25 циклов. Денатурацию протекала при температуре 95-96°C в течение 1,5-2 мин. отжиг при t-ре 68-70°C в течение 2 мин. элонгация цепочки ДНК при t-ре 70-72°C в течение 7-10 мин. Выделенную ДНК подвергали электрофорузу в агарозном геле с последующей идентификацией продуктов ПЦР.

Приведенные данные из таблицы свидетельствуют об успешном выделении ДНК аденовирусов. Следует отметить разницу в цитопатическом действии изолятов на Нер-клетки. Данный эффект имеет множество составляющих, включая генотип, серотипные свойства аденовируса.

Таблица - Результаты выделения аденовирусов

Возраст пациента	Диагноз	Материал	Результат типирования НИИЭМ
10 лет	АВИ, фаринготонзиллит, ОРВИ	Носоглоточный смыв	ЦПД на Нер 2С и 1.20В (морфологически круглые клетки) ПЦР адено+
4 г 5 мес	ОРВИ	Носоглоточный смыв	Слабое ЦПД на Нер 2С (морфологически круглые клетки) ПЦР адено+
1 г 6 мес	Острый гастроэнтерит	Фекалии	ЦПД на Нер 2С (морфологически круглые клетки) – ПЦР адено+
5 лет	Аденовирусная инфекция, ринофарингит	Носоглоточный смыв	ЦПД на Нер 2С (морфологически мелкоточечная дегенерация) – ПЦР адено+
21 год	Острый гастроэнтерит	Носоглоточный смыв	Слабое ЦПД на Нер 2С (морфологически круглые клетки) ПЦР адено+
2 г 5 мес	ОВП Острый энцефалополирадикулоневрит	Носоглоточный смыв	РН на Нер 2С (морфологически круглые клетки) – неполиовирус ПЦР адено+

### **Выводы.**

1. Для выделения аденовирусов возможно использование культуры клеток Нер-2с и I. 20В.

2. Носоглоточные смывы необходимо забирать в первые дни заболевания, с наличием катаральных явлений, тонзиллярным синдромом

3. Техника выполнения смыва предусматривает максимальный захват эпителия верхних дыхательных путей, миндалин. Наличие слизистого компонента, как правило, делает смыв непригодным для пассажа на культуру клеток

4. Положительный результат цитопатического действия (ЦПД) при пассаже смыва на Нер-2 культуру клеток не создает полной уверенности о наличии аденовирусов. Окончательно подтверждающим этапом является ПЦР-диагностика с выделением ДНК аденовируса.

### **Литература**

1. Амосова И.В. Сравнительный анализ результатов диагностики гастроэнтеритов аденовирусной этиологии с использованием методов электронной микроскопии, иммуноферментного анализа и ПЦР. И.В.Амосова, А.К.Сироткин, Т.Д.Смирнова, А.А.Соминина. Материалы Международной научно-практической конференции «Молекулярная диагностика инфекционных болезней» -Белоруссия, Минск -2007.-С. 158.

2. Покровский В.И. Инфекционные болезни и эпидемиология, 2007